

Title	長島型掌蹠角化症の発症機序の解明
Sub Title	Characterization of the molecular pathogenesis of Nagashima-type palmoplantar keratosis
Author	久保, 亮治(Kubo, Akiharu)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>長島型掌蹠角化症は、プロテアーゼインヒビターSERPINB7の欠損症である。本症の主な症状は、1. 掌蹠の悪臭、2. 掌蹠の潮紅と多汗である。本研究の目的は、これらの症状が生じる分子機序の解明と治療法の確立である。</p> <p>1. 掌蹠の悪臭 皮膚細菌叢の変化により悪臭が生じていると考えられたため、患者23名の手足、および健常者17名の手足を用いて、臭いスケールにより臭気の数値化を行うとともに、スワブ法により手足の各部位別に細菌叢を取得し、細菌数の定量解析と、次世代シーケンサを用いたマイクロバイオーム解析を行った。</p> <p>一般的なマイクロバイオーム解析では、各菌種が全細菌数に対して占める割合を検出するが、菌の全体数は評価できない。一方、長島型掌蹠角化症では、菌数自体が増加していることが予想されたため、細菌の全体数を評価する必要がある。そこで、細菌数を近似的に測定するために、16S rRNAコピー数の定量方法を確立した。本法を用いて16S rRNAコピー数を比較し、健常人と長島型掌蹠角化症患者での細菌数比較を行った。また、マイクロバイオーム解析により、長島型掌蹠角化症で増加している主要な菌を同定した。酸化ベンゾイルゲルの外用後は、全例において臭気の改善を認めた。</p> <p>2. 掌蹠の潮紅と多汗 SERPINB7のノックアウトマウスの足底皮膚に症状が出現しなかったことから、本症の病態解明のためにヒトサンプルを用いた解析を行う必要がある。患者13名および健常者8名から足底の角質を採取し、プロテオーム解析、免疫染色解析、脂質構成成分の質量分析解析を行った。足底角質の脂質成分には大きな変化を認めなかった。プロテオーム解析において発現上昇が見られた蛋白Xは、その変異により掌蹠角化症をきたすことが知られている。免疫組織染色にて、正常人では蛋白XとSERPINB7の共局在が認められ、SERPINB7欠損患者の皮膚では細胞内蛋白Xシグナルの減少、SERPINB7のミスセンス変異患者では、SERPINB7と蛋白Xの細胞内異常蓄積が認められた。現在in vitroでの両蛋白の相互作用解析を進めている。</p> <p>Nagashima-type palmoplantar keratosis (NPPK) is caused by the deficiency of the serine protease inhibitor, SERPINB7. The major symptom of NPPK is (1) smell of the hands and feet and (2) erythroderma and hyperhidrosis of the hands and feet. The purpose of this study is to investigate the molecular pathogenesis of these symptoms in NPPK to develop novel treatment for NPPK.</p> <p>(1) We found that topical application of benzoyl peroxide is effective for the smell of hands and feet in NPPK, which suggests that skin microbiota is changed in NPPK and produces the smell. Therefore, we collected skin microbiota from 23 NPPK patients and 17 normal controls and performed realtime PCR analysis to reveal changes in number of microorganisms and meta genome analyses via next generation sequencing to reveal changes in species of microorganisms. We established a method to identify the approximate number of microorganisms via realtime PCR analysis of 16 rRNA copy number. We found that the number of microorganisms were dramatically increased on the hand and foot in NPPK. After usage of benzoyl peroxide, these microorganisms reduced in number and the smell of hand and foot reduced in patients.</p> <p>(2) Since Serpinb7 KO mice showed no skin symptoms, we decided to investigate human samples. We collected squames from the feet of 13 NPPK patients and 8 normal controls and performed proteome analyses, lipid analysis using mass spectrometry, and immunohistochemical staining. We found that protein X expression is increased in the squames of NPPK patients. Protein X is a causative gene of another PPK. We found that Protein X and SERPINB7 colocalized at the apical membrane of granular layer cells in the epidermis. The immunostaining of Protein X revealed that Protein X expression was decreased in the SERPINB7 KO patients but Protein X was mislocalized around nuclei with SERPINB7 in the patient who possess a missense mutation in SERPINB7. In vitro study is underway to investigate the interaction between Protein X and SERPINB7.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000006-20180424

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	准教授	補助額	1,600 千円
	氏名	久保 亮治	氏名（英語）	Akiharu Kubo		
研究課題（日本語）						
長島型掌蹠角化症の発症機序の解明						
研究課題（英訳）						
Characterization of the molecular pathogenesis of Nagashima-type palmoplantar keratosis						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
久保亮治（Akiharu Kubo）		医学部・皮膚科・准教授				
佐々木貴史（Takashi Sasaki）		医学部・百寿総合研究センター・専任講師				
梅垣知子（Noriko Umegaki）		医学部・皮膚科・助教				
1. 研究成果実績の概要						
<p>長島型掌蹠角化症は、プロテアーゼインヒビター SERPINB7 の欠損症である。本症の主な症状は、1. 掌蹠の悪臭、2. 掌蹠の潮紅と多汗である。本研究の目的は、これらの症状が生じる分子機序の解明と治療法の確立である。</p> <p>1. 掌蹠の悪臭</p> <p>皮膚細菌叢の変化により悪臭が生じていると考えられたため、患者 23 名の手足、および健常者 17 名の手足を用いて、臭いスケールにより臭気の数値化を行うとともに、スワブ法により手足の各部位別に細菌叢を取得し、細菌数の定量解析と、次世代シーケンサを用いたマイクロバイオーム解析を行った。</p> <p>一般的なマイクロバイオーム解析では、各菌種が全細菌数に対して占める割合を検出するが、菌の全体数は評価できない。一方、長島型掌蹠角化症では、菌数自体が増加していることが予想されたため、細菌の全体数を評価する必要がある。そこで、細菌数を近似的に測定するために、16S rRNA コピー数の定量方法を確立した。本法を用いて 16S rRNA コピー数を比較し、健常人と長島型掌蹠角化症患者での細菌数比較を行った。また、マイクロバイオーム解析により、長島型掌蹠角化症で増加している主要な菌を同定した。酸化ベンゾイルゲルの外用後は、全例において臭気の改善を認めた。</p> <p>2. 掌蹠の潮紅と多汗</p> <p>SERPINB7 のノックアウトマウスの足底皮膚に症状が出現しなかったことから、本症の病態解明のためにヒトサンプルを用いた解析を行う必要がある。患者 13 名および健常者 8 名から足底の角質を採取し、プロテオーム解析、免疫染色解析、脂質構成成分の質量分析解析を行った。足底角質の脂質成分には大きな変化を認めなかった。プロテオーム解析において発現上昇が見られた蛋白 X は、その変異により掌蹠角化症をきたすことが知られている。免疫組織染色にて、正常人では蛋白 X と SERPINB7 の共局在が認められ、SERPINB7 欠損患者の皮膚では細胞内蛋白 X シグナルの減少、SERPINB7 のミスセンス変異患者では、SERPINB7 と蛋白 X の細胞内異常蓄積が認められた。現在 in vitro での両蛋白の相互作用解析を進めている。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Nagashima-type palmoplantar keratosis (NPPK) is caused by the deficiency of the serine protease inhibitor, SERPINB7. The major symptom of NPPK is (1) smell of the hands and feet and (2) erythroderma and hyperhidrosis of the hands and feet. The purpose of this study is to investigate the molecular pathogenesis of these symptoms in NPPK to develop novel treatment for NPPK.</p> <p>(1) We found that topical application of benzoyl peroxide is effective for the smell of hands and feet in NPPK, which suggests that skin microbiota is changed in NPPK and produces the smell. Therefore, we collected skin microbiota from 23 NPPK patients and 17 normal controls and performed realtime PCR analysis to reveal changes in number of microorganisms and meta genome analyses via next generation sequencing to reveal changes in species of microorganisms. We established a method to identify the approximate number of microorganisms via realtime PCR analysis of 16 rRNA copy number. We found that the number of microorganisms were dramatically increased on the hand and foot in NPPK. After usage of benzoyl peroxide, these microorganisms reduced in number and the smell of hand and foot reduced in patients.</p> <p>(2) Since Serpinb7 KO mice showed no skin symptoms, we decided to investigate human samples. We collected squames from the feet of 13 NPPK patients and 8 normal controls and performed proteome analyses, lipid analysis using mass spectrometry, and immunohistochemical staining. We found that protein X expression is increased in the squames of NPPK patients. Protein X is a causative gene of another PPK. We found that Protein X and SERPINB7 colocalized at the apical membrane of granular layer cells in the epidermis. The immunostaining of Protein X revealed that Protein X expression was decreased in the SERPINB7 KO patients but Protein X was mislocalized around nuclei with SERPINB7 in the patient who possess a missense mutation in SERPINB7. In vitro study is underway to investigate the interaction between Protein X and SERPINB7.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			
Yamauchi A, Kubo A, Ono N, Shiohama A, Tsuruta D, Fukai K	Three cases of Nagashima-type palmoplantar keratosis associated with atopic dermatitis: A diagnostic pitfall.	J Dermatol.	2018 May;45(5):e112-e113			
Kogame T, Kaku Y, Endo Y, Yamashita C, Horiguchi A, Kubo A, Kabashima K	A follow-up report of acral melanoma in a patient with Nagashima-type palmoplantar keratosis: validation of SERPINB7 mutation and local recurrence.	Eur J Dermatol.	2018 Aug 1;28(4):519-520			

久保亮治	角化症における基礎と臨床のキャッチボール	第 33 回角化症研究会(招待講演)	2018.7.28
Kubo A	Decrypting the four dimensional homeostasis of the epidermis	22nd meeting of the european dermatology forum	2019.1.25